

PENURUNAN PRODUKSI ASAM DAN PERTUMBUHAN BAKTERI STREPTOCOCCUS SOBRINUS SETELAH TERPAPAR REBUSAN DAUN SIRIH MERAH 10%

(REDUCTION OF ACID PRODUCTION AND GROWTH OF STREPTOCOCCUS SOBRINUS AFTER EXPOSING 10% RED PIPER BETLE LEAVES DECOCTION)

Tetiana Haniastuti, Ristini Asih

Bagian Biologi Mulut
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta 55281

Abstract

Dental caries is an infectious disease which is caused by cariogenic bacteria in oral cavity such as *Streptococcus sobrinus*. The bacteria produce organic acids which demineralize the enamel surface and destroy the hard structure of the tooth. Red piper betel is one of the medicinal plants which is commonly planted by Indonesian people in all over the country. Traditionally, red piper betel leaves decoction frequently used by people as an agent to treat oral diseases. The purpose of the research was to study anticariogenic activity of red piper betle leaves decoction by examining acid production and growth of *S. sobrinus* after exposed red piper betle leaves decoction. Acid production and growth of *S. sobrinus* were examined by adding 5% and 10% red piper betel leaves decoction, aquadest (negative control) and Listerine (positive control) into brain heart infusion broth medium containing 1% glucose. The medium was then inoculated with 10^6 *S. sobrinus* and incubated at 37°C for 1, 2, 4, 6, and 8 hours. The absorbance of the medium was measured spectrophotometrically at 550 nm. The pH of the cultures was determined using pH meter. Kruskal Wallis test showed no significant difference pH among the groups immediately after the treatment ($p > 0.05$). Mann Whitney test showed that after 6 hours, the group treated with 10% red piper betel leaves decoction had a significant higher pH ($p < 0.05$) compared to the other groups, indicating that 10% red piper betle leaves decoction reduced acid production of *S. sobrinus*. After 24 hours, the colony number of *S. sobrinus* of the group treated with 10% red piper betle leaves decoction was significantly fewer ($p < 0.05$) compared to the negative control group, but significantly higher ($p < 0.05$) compared to the positive control group. These results indicated that 10% red piper betle leaves decoction reduced the growth of *S. sobrinus*. In conclusion, 10% red piper betle leaves decoction has anticariogenic activity due to its ability to reduce acid production and growth of *S. sobrinus*.

Key words: *Streptococcus sobrinus*, bacterial growth, acid production, red piper betel

Abstrak

Karies merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri kariogenik yang terdapat di dalam rongga mulut, antara lain *Streptococcus sobrinus*. Bakteri tersebut mampu menghasilkan asam organik yang menyebabkan demineralisasi email gigi, sehingga menghancurkan jaringan keras gigi. Sirih merah merupakan salah satu tanaman yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Secara tradisional, rebusan daun sirih merah sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit gigi dan mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antikariogenik rebusan daun sirih merah dengan menguji produksi asam dan pertumbuhan *Streptococcus sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah. Produksi asam dan laju pertumbuhan diuji dengan menambahkan rebusan daun sirih merah konsentrasi 5% dan 10% serta akuades (kontrol negatif) dan Listerine (kontrol positif) pada media *brain heart infusion broth* yang mengandung 1% glukosa. Media kemudian diinokulasi dengan 10^6 sel bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1, 2, 4, 6, dan 8 jam. Absorbansi media diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm, sedangkan pH media ditentukan dengan menggunakan pH-meter. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pH yang signifikan antar kelompok sesaat setelah perlakuan ($p > 0,05$). Hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa kelompok yang terpapar rebusan daun sirih merah 10% mempunyai pH yang secara signifikan lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok yang lain, mengindikasikan bahwa paparan rebusan daun sirih merah 10% mampu menurunkan produksi asam dari *S. sobrinus*. Setelah 24 jam, jumlah koloni bakteri *S. sobrinus* pada kelompok yang terpapar rebusan daun sirih merah 10% secara signifikan lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$), tapi secara

signifikan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa paparan rebusan daun sirih merah 10% dapat menurunkan jumlah koloni *S. sobrinus*. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa rebusan daun sirih merah 10% mempunyai potensi antikariogenik karena mempunyai kemampuan menurunkan produksi asam dan laju pertumbuhan *S. sobrinus*.

Kata kunci: *Streptococcus sobrinus*, pertumbuhan bakteri, produksi asam, daun sirih merah

PENDAHULUAN

Karies merupakan penyakit infeksi kronis yang menyebabkan destruksi jaringan keras gigi. Prevalensi penyakit ini sangat tinggi, terutama di negara sedang berkembang. Berdasarkan data hasil Riset Kesehatan Dasar Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2007, diketahui bahwa jumlah penderita karies di Indonesia masih sangat tinggi. Prevalensi karies aktif penduduk di Indonesia mencapai 43,4%, sedangkan persen pengalaman karies mencapai 67,2%.¹

Karies merupakan penyakit multifaktorial. Faktor-faktor yang berperan dalam terjadinya lesi karies yaitu bakteri, diet terutama karbohidrat, saliva, dan gigi.² Penyakit ini terjadi akibat interaksi antara bakteri kariogenik dengan diet pada host yang rentan. Bakteri kariogenik tersebut antara lain *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, dan *Lactobacillus acidophilus*. Asam laktat dan asam organik lainnya hasil metabolisme bakteri kariogenik akan mengakibatkan demineralisasi jaringan keras gigi sehingga menimbulkan lesi pada gigi.³

Streptococcus sobrinus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, yang bersifat non motil. Bakteri ini sering diisolasi dari lesi karies. Individu dengan konsentrasi *S. sobrinus* dalam saliva yang tinggi akan didapatkan lesi karies yang lebih banyak bila dibandingkan individu dengan konsentrasi *S. sobrinus* yang rendah.⁴ Faktor-faktor virulensi *S. sobrinus* yang berperan penting dalam patogenesis karies adalah kemampuan bakteri ini dalam menghasilkan asam (*acidogenic*) dan kemampuannya untuk dapat tetap berkembang biak dalam suasana asam (*aciduric*). Asam yang dihasilkan oleh *S. sobrinus* akan menyebabkan demineralisasi email gigi, sehingga terbentuk lesi karies. Selain itu, bakteri ini mampu memproduksi glukosiltransferase. Glukosiltransferase merupakan enzim yang berperan sebagai katalisator sintesis glukukan dari sukrosa. Glukan berperan penting dalam perlekatan dan kolonisasi bakteri pada permukaan gigi sehingga terbentuk plak.⁵ Kontrol pertumbuhan bakteri kariogenik termasuk *S. sobrinus* dan faktor virulensinya dalam rongga mulut merupakan salah satu tahap penting dalam upaya pencegahan karies.⁶

Upaya pencegahan karies yang paling sederhana

adalah dengan menyikat permukaan gigi, namun menyikat gigi secara adekuat untuk menghilangkan plak yang melekat pada seluruh permukaan gigi terkadang sulit dilakukan, karena tidak terjangkau oleh bulu-bulu sikat gigi. Untuk mengatasi hal tersebut diperlukan tambahan bahan kimiawi misalnya obat kumur yang bersifat antiseptik. Obat kumur dengan berbagai merek dagang banyak tersedia di pasaran, namun harganya relatif mahal sehingga tidak terjangkau oleh masyarakat luas.⁷

Sejak jaman dahulu, tanaman obat sudah sering digunakan secara tradisional untuk pengobatan berbagai macam penyakit. Sirih merah merupakan salah satu tanaman yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Secara tradisional, tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit-penyakit gusi berdarah, sariawan, gigi berlubang, bau mulut, dan radang tenggorokan.⁸ Daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tannin dan minyak atsiri yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Juliantina dkk.⁹ menunjukkan bahwa ekstrak sirih merah konsentrasi 25% bersifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, sedangkan konsentrasi 6,25% dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Pada saat ini, penelitian untuk menggali potensi tanaman obat sebagai sumber komponen obat-obat antibakteri, antifungal, antiviral dan antikanker semakin berkembang. Dalam bidang kedokteran gigi, penelitian untuk mengetahui potensi tanaman obat sebagai alternatif bahan pencegah karies juga semakin dikembangkan.¹⁰⁻¹² Adanya zat-zat aktif dalam daun sirih merah yang bersifat sebagai antibakteri, serta penggunaannya secara tradisional oleh masyarakat sebagai obat untuk menjaga kesehatan rongga mulut, maka kemungkinan daun sirih merah berpotensi sebagai bahan antiseptik obat kumur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antikariogenik rebusan daun sirih merah dengan menguji produksi asam dan laju pertumbuhan *Streptococcus sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Rebusan daun sirih merah konsentrasi

10% dibuat dengan cara merebus 10 gram daun sirih merah (*Piper crocatum*) dalam air sebanyak 200 ml sampai mendidih dan air rebusan tersisa 100 ml. Rebusan daun sirih merah konsentrasi 5% dibuat dengan mencampur 50 ml rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dengan 50 ml akuades.

Produksi asam diuji dengan menambahkan rebusan daun sirih merah konsentrasi 5%, 10%, kontrol negatif (akuades) dan kontrol positif (Listerine) pada tabung yang berisi 5 ml media *brain heart infusionbroth* (BHI) yang mengandung 1% glukosa (pH 7,1). Tabung-tabung tersebut kemudian diinokulasi dengan 10^6 sel bakteri *S. sobrinus* OMZ176. Selanjutnya seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C. Produksi asam ditentukan dengan mengukur pH media kultur dengan menggunakan pH meter sesaat setelah dicampur (0), 1, 2, 4, 6, dan 8 jam setelah paparan. Laju pertumbuhan dimonitor secara turbidimetri dengan mengukur absorbansi media kultur pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan spektrometer pada waktu-waktu tersebut. Setelah 24 jam, media kultur ditanam pada media BHI dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Data diperoleh dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media dikalikan dengan faktor pengenceran.

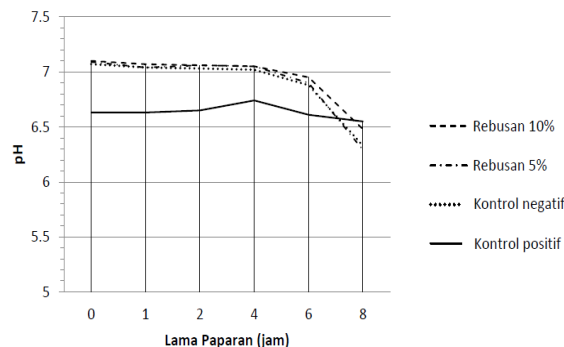
Dilakukan replikasi 3 kali pada seluruh prosedur penelitian. Data produksi asam dan laju pertumbuhan dianalisis dengan menggunakan uji statistik Kruskal Wallis dan Mann Whitney, sedangkan jumlah koloni bakteri dianalisis dengan uji T.

HASIL

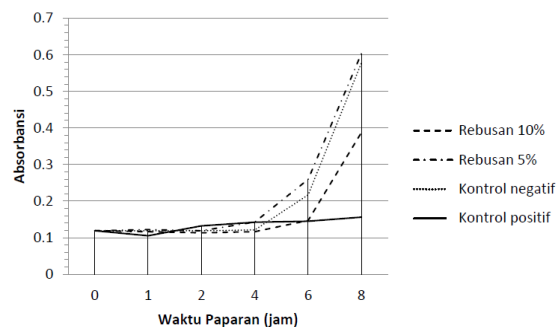
Hasil penelitian menunjukkan bahwa sesaat setelah paparan rebusan daun sirih merah konsentrasi 5%, 10%, dan akuades tidak menyebabkan pH media kultur bakteri menurun (Gambar 1). Namun paparan Listerine (kontrol positif) menyebabkan pH media turun. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pH yang signifikan ($p > 0,05$) antar kelompok rebusan daun sirih merah 5%, 10%, dan kontrol negatif. Hal tersebut mengindikasikan bahwa paparan rebusan daun sirih merah mempunyai efek yang sama dengan akuades, yaitu tidak menyebabkan penurunan pH. Setelah 4 jam, pH media kultur bakteri pada kelompok yang terpapar rebusan daun sirih merah 5%, 10%, dan kontrol negatif tampak sedikit menurun, dan semakin menurun setelah 6 jam.

Pada pengamatan 6 dan 8 jam, pH media kultur kelompok yang terpapar rebusan daun sirih merah 10% tampak lebih tinggi bila dibandingkan kelompok yang lain. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p <$

0,05) pH media kultur antara kelompok yang terpapar rebusan sirih merah 10% bila dibandingkan dengan rebusan sirih merah 5% dan kontrol negative pada pengamatan 4, 6, dan 8 jam. Hal ini menunjukkan bahwa rebusan daun sirih merah 10% mampu menurunkan produksi asam dari *S. sobrinus*.



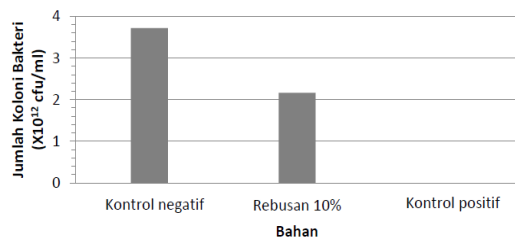
Gambar 1. pH media kultur setelah terpapar rebusan daun sirih merah



Gambar 2. Laju pertumbuhan *S. sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan absorbansi yang signifikan antar kelompok ($p < 0,05$), mengindikasikan bahwa rebusan daun sirih merah berpengaruh terhadap laju pertumbuhan *S. sobrinus*. Pada Gambar 2 tampak bahwa absorbansi media kultur mulai meningkat pada semua kelompok setelah 2 jam, kecuali pada kelompok rebusan daun sirih merah 10% dan kontrol positif. Hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa pada pengamatan 4 dan 6 jam terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) absorbansi pada kelompok yang terpapar rebusan daun sirih merah 10% bila dibandingkan dengan rebusan daun sirih merah 5% dan kontrol negatif, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pada pengamatan 4 dan 6 jam laju pertumbuhan *S. sobrinus* lebih rendah setelah terpapar rebusan daun sirih merah 10% bila dibandingkan dengan kelompok rebusan daun sirih merah 5% dan kontrol negatif, namun sama dengan laju pertumbuhan *S. sobrinus*

yang terpapar dengan kontrol positif.



Gambar 3. Jumlah koloni *S. sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah

Hasil perhitungan jumlah koloni *S. sobrinus* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan rebusan daun sirih merah 10% menunjukkan bahwa jumlah koloni *S. sobrinus* lebih sedikit dibandingkan kontrol negatif. Tidak tampak koloni *S. sobrinus* tumbuh pada kelompok kontrol positif (Gambar 3). Hasil uji t menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara jumlah koloni *S. sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah 10% bila dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa paparan rebusan daun sirih merah 10% dapat menurunkan jumlah koloni *S. sobrinus*, walaupun efeknya tidak sebaik kontrol positif.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan rebusan sirih merah menyebabkan penurunan produksi asam dan laju pertumbuhan *S. sobrinus*. Hasil uji laju pertumbuhan *S. sobrinus* yang diukur secara turbidimetri serta perhitungan jumlah koloni bakteri menunjukkan bahwa terjadi penurunan laju pertumbuhan *S. sobrinus* setelah terpapar rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%. Hal ini mungkin karena rebusan daun sirih merah mengandung zat-zat yang mempunyai kemampuan antibakteri antara lain flavonoid, tanin, dan saponin.⁹

Senyawa flavonoid dan tanin merupakan turunan fenol yang bersifat antibakteri karena mampu berinteraksi dengan protein, enzim, dan lipid dari membran sel bakteri, sehingga merubah permeabilitas sel dan menyebabkan lepasnya proton, ion dan makromolekul yang berakibat lisis membran sel. Selain itu, apabila senyawa-senyawa tersebut melewati membran sel bakteri, akan merusak enzim dan mendenaturasi protein intraseluler yang dapat berakibat kematian sel bakteri.¹³

Saponin bersifat sebagai *surfactant agent* yang kuat, karena dapat menurunkan tegangan permukaan antar sel. Saponin yang diabsorpsi pada permukaan sel akan menyebabkan kerusakan sel bak-

teri dengan meningkatnya permeabilitas membran, sehingga bahan-bahan esensial yang dibutuhkan oleh bakteri untuk hidup menjadi hilang dan menyebabkan kematian sel.¹⁴

Kemampuan untuk menghasilkan asam dan hidup dalam suasana asam merupakan faktor virulensi dari *S. sobrinus* dalam menyebabkan karies. Asam dihasilkan oleh bakteri *S. sobrinus* sebagai hasil fermentasi glukosa yang dapat menyebabkan dekalsifikasi email gigi sehingga menginisiasi terjadinya karies. Dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa *S. sobrinus* mempunyai kemampuan yang lebih kuat dalam menghasilkan asam daripada *S. mutans*. Penelitian ini membuktikan bahwa produksi asam *S. sobrinus* menurun setelah terpapar rebusan daun sirih merah konsentrasi 10%. Hal ini mungkin disebabkan karena kemampuan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dalam menurunkan laju pertumbuhan bakteri. Apabila jumlah bakteri *S. sobrinus* menurun maka produksi asamnya juga akan menurun. Selain itu, mungkin juga disebabkan karena rebusan daun sirih merah berpengaruh terhadap kemampuan glikolisis bakteri. *Streptococcus sobrinus* yang terpapar senyawa turunan fenol kemungkinan mampu meningkatkan regulasi protein-protein yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan dirinya untuk melindungi sel sehingga sel tetap bertahan hidup namun pada saat yang bersamaan menurunkan laju metabolismenya.¹³ Kemungkinan lain dari kemampuan rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% dalam menurunkan kemampuan produksi asam dari *S. sobrinus* adalah karena komponen-komponen dari rebusan daun sirih merah mampu mengganggu membran yang berhubungan dengan enzim yang berfungsi dalam transport gula, enzim-enzim glikolitik dan ekspresi protein-protein yang berkaitan dengan metabolisme bakteri.¹⁵

Pada penelitian ini digunakan Listerine sebagai kontrol positif, karena merupakan salah satu obat kumur yang banyak digunakan oleh masyarakat. Listerine mengandung bahan aktif *thymol*, *eucalyptol*, *methylsalicylate* dan *menthol*. *Thymol* dan *eucalyptol* bersifat antibakteri karena dapat merusak dinding sel dan menghambat aktivitas enzim sehingga menyebabkan lisis sel. Selain itu, bahan tersebut juga mampu mencegah agregasi bakteridan menurunkan kecepatan replikasi bakteri.¹⁶ Hasil penelitian ini membuktikan bahwa Listerine efektif membunuh bakteri *S. sobrinus*, namun paparannya menyebabkan turunnya pH media kultur. Hasil tersebut didukung hasil penelitian Cavalcanti dkk.¹⁷ bahwa Listerine mempunyai pH kurang dari 5,5, sehingga paparan dalam jangka waktu lama berpotensi menyebabkan erosi pada email. Dari hasil

penelitian ini disimpulkan bahwa rebusan daun sirih merah konsentrasi 10% mempunyai potensi anti-kariogenik karena mempunyai kemampuan dalam menurunkan produksi asam dan laju pertumbuhan *S. sobrinus*.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan RI, Riset kesehatan dasar 2007, Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI, 2008.
2. Fejerskov O, Kidd, EAM, Nyvad B, Baelum V. Defining the disease: an introduction. In: Fejerskov O, Kidd E. eds. Dental caries the disease and its clinical management. 2nd ed. Oxford: Blackwell Munksgaard Ltd, 2008: 4.
3. Ritter AV, Eidson RS, Donovan TE. Dental caries: etiology, clinical characteristics, risk assessment, and management. In: Heymann HO, Swift EJ, Ritter AV. eds. Studevant's art and science of operative dentistry. 6thed. Singapore: Elsevier Pte Ltd, 2012: 41-6.
4. Jiang Q, Yu M, Min Z, Yi A, Chen D, Zhang Q. AP-PCR detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in caries-free and caries-active subjects. *Mol Cell Biochem* 2012; 365: 159-64.
5. Beighton D. Can the ecology of the dental biofilm be beneficially altered? *Adv Dent Res* 2009; 21: 69-73.
6. Forssten SD, Björklund M, Ouwehan AC. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients* 2010; 2: 290-8.
7. Li L, Guo L, Lux R, Eckert R, Yarbrough D, He J, Anderson M, Shi W. Targeted antimicrobial therapy against *Streptococcus mutans* establishes protective non-cariogenic oral biofilms and reduces subsequent infection. *Int J Oral Sci* 2010; 2:66-73.
8. Werdhany WI, Marton A, Setyorini. Sirih Merah. Sleman: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta. 2008.
9. Juliantina F, Citra, DA, Nirwani, B, Nurmasitoh, T, Bowo ET. Manfaat sirih merah sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *JKKI* 2009; 1(1).
10. Song J, Kim a S, Chang K, Han S, Yi H, Jeon J. In vitro inhibitory effects of *Polygonumcuspidatum* on bacterial viability and virulence factors of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Arch Oral Biol* 2006; 51: 1131-40.
11. Koo H, Jeon JG. Naturally occurring molecules as alternative therapeutic agents against cariogenic biofilms. *Adv Dent Res* 2009; 21: 63-8.
12. Fathilah AR. Piper betle L. and *Psidium guajava* L. in oral health maintenance. *J Med Plant Res* 2011; 5(2): 156-163.
13. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent* 2009; 37: 413-23.
14. Augustin JM, Kuzina V, Andersen SB, Bak S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *J Phytochem* 2011; 72: 435-57.
15. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. *Caries Res* 2011; 45: 243-63.
16. Allaker RP, Douglas CWI. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 8-13.
17. Cavalcanti AL, Ramos IA, Leite RB, Olivei MC, Menezes KM, Fernandez LV, Castro RD, Viera FF. Endogenous pH, titrable acidity and total soluble solid content of mouthwashes available in Brazillian market. *Eur J Dent* 2010; 4(2): 156-9.